dites en même temps que des fleurs mâles et des fleurs femelles. Ses fleurs mâles ne présentent aucun caractère qui les distingue de la généralité de leurs analogues dans les autres Bégonias tubéreux. Elles ont un périanthe de quatre pièces en deux paires croisées dont les deux externes beaucoup plus grandes que les deux autres, et leur androcée consiste en une houppe centrale d'environ quatre-vingts étamines.

Dans les fleurs femelles, le périanthe, moins ample que celui des fleurs mâles, est en quinconce et l'ovaire infère, présentant cinq loges à l'intérieur, est surmonté de dix styles bifides, à branches spiralées, dont cinq correspondent normalement à la ligne médiane externe des cinq loges, tandis que les cinq autres, alternant avec eux, sont assez régulièrement superposés aux cloisons.

Quant aux fleurs hermaphrodites, elles sont devenues telles parce que leurs carpelles étant, non plus infères comme dans l'état normal, mais supères et distincts les uns des autres, au centre du cercle sur lequel ils sont rangés dans la fleur il s'est développé une houppe d'étamines parfaites. Il y a même d'autres étamines insérées dans le cercle même occupé par les carpelles. Quant à ceux-ci, leur ovaire est ouvert dans toute sa longueur vers le centre de la fleur, avec ses deux côtés chargés d'ovules tant en dehors qu'en dedans; il porte néanmoins au sommet un style normal. En outre, une particularité très remarquable consiste en ce que, sous ces fleurs, le pédoncule, qui n'a plus de rapport avec l'ovaire et qui est plein, est néanmoins relevé d'ailes, tout comme l'est la couche externe de l'ovaire dans la fleur femelle normale des Bégonias en général. Ce fait est regardé par M. P. Duchartre comme venant appuyer d'une façon assez inattendue la théorie de Decaisne qui regarde la couche externe des ovaires infères comme une cupule réceptaculaire dans laquelle sont contenus les ovaires des carpelles.

M. Wasserzug fait à la Société la communication suivante :

SUR LES SPORES CHEZ LES LEVURES, par **M. E. WASSERZUG**.

Les spores ont été observées pour la première fois chez les levûres par M. de Seynes (1), en 1868, chez une espèce qu'il désigna sous le nom connu de *Mycoderma vini*. Peu de temps après, Reess (2), dans une étude générale sur le genre *Saccharomyces*, les obtint en cultivant les

(1) J. de Seynes, *Sur le* Mycoderma vini (*Comptes rendus*, t. LXVII, 1868, p. 105 et *Annales des sc nat.* 5e série, X, 1869, p. 5).

(2) Reess, *Zur Naturgeschichte der Bierhefe* (*Botan. Zeitung*, XXVII, 1869, p. 105. — *Bot. Untersuch. ueber die Alkoholgähr.* 1870).

levûres, non plus dans un milieu liquide, mais sur des tranches de carotte, de pomme de terre, etc., autrement dit en forçant les cellules végétatives à se développer dans des conditions défavorables. Dans ces conditions, comme l'avait d'ailleurs remarqué M. de Seynes, les spores se forment facilement, et Reess les obtint ou plutôt crut les obtenir dans tous les cas chez les espèces très nombreuses de *Saccharomyces* qu'il étudia. A cause de leur mode de formation endogène, à cause de leur nombre qui est en général de quatre par cellule, ces spores reçurent le nom d'ascospores, et leur existence permit à Reess de placer les *Saccharomyces* parmi les Ascomycètes inférieurs.

Reess, nous l'avons dit, avait cru obtenir des spores chez toutes les levûres ; mais la plupart des expérimentateurs qui voulurent retrouver ses résultats, à ne citer que Brefeld (1) et Eidam (2), ne purent pas y réussir ou ne parvinrent à reproduire des spores que chez un nombre très restreint d'espèces, tout en se plaçant dans les conditions que Reess avait indiquées.

Il est fort probable, en effet, que Reess a pris, dans un grand nombre de cas, pour des spores de simples gouttelettes d'huile qui se forment constamment dans les cellules végétatives des cultures âgées ou se développant dans de mauvaises conditions. Ces gouttelettes d'huile prennent très souvent la forme et l'aspect des ascospores, et l'illusion est assez grande pour tromper même l'observateur le plus attentif. Pour distinguer ces formations huileuses des véritables ascospores, il faut alors avoir recours au procédé suivant. On étend une goutte du liquide de culture sur une lamelle porte-objet, on laisse sécher par évaporation, on passe trois ou quatre fois la lamelle dans la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec Bunsen, on laisse tomber sur la préparation quelques gouttes d'une solution à volume égal d'alcool absolu et d'éther qui dissout les gouttelettes d'huile que la chaleur a le plus souvent fait sortir des cellules; les ascospores au contraire résistent et conservent leur forme et leur position à la suite de ce traitement.

On peut ainsi se convaincre facilement que la culture des levûres sur les milieux solides employés par Reess est très souvent insuffisante pour amener la formation des ascospores. Ce procédé a un autre inconvénient : il laisse trop de facilité à l'envahissement par les Bactéries ou les moisissures quand on n'a pas recours aux procédés rigoureux de stérilisation préalable à 115 degrés, dans une atmosphère humide.

M. Engel (3) a indiqué en 1872 une autre méthode pour obtenir la fructification des cellules de levûre. L'ensemencement se fait sur la surface

(1) Brefeld, *Beobacht. ueber die Biologie der Hefe* (*Bot. Zeitung*, 1875, p. 401).
(2) Eidam, *Der gegenw. Standpunkt der Mycologie*, 2e édit., p. 59.
(3) Engel, *Les ferments alcooliques*, 1872.

unie d'un bloc de plâtre qu'on plonge dans l'eau afin de le maintenir constamment humide. Ce procédé a donné de bons résultats à M. E. Chr. Hansen (1), le savant danois bien connu par ses travaux nombreux sur la culture et la purification des levûres. M. Hansen a pu obtenir la formation des ascospores chez un très grand nombre de levûres au moyen de cultures sur plâtre : il a pu étudier les conditions dans lesquelles ces ascospores se formaient chez six « formes » différentes : le *S. cerevisiæ*, trois « races » de *S. Pastorianus* et deux races de *S. ellipsoideus*. Les spores peuvent se produire entre 0°,5 et 37°,5 centigrades. Mais l'optimum de température varie, pour chaque espèce, avec l'âge, l'origine et les milieux primitifs de culture. Toutefois un certain nombre d'espèces forment difficilement des spores sur le plâtre; de plus ce procédé rend assez difficile l'observation; en outre, il n'est pas toujours commode de conserver indéfiniment la pureté des cultures.

Les inconvénients des procédés divers qui ont été employés et que je viens de passer en revue n'existent pas dans la méthode qui m'a servi pour l'étude des spores des *Saccharomyces*. Cette méthode est la suivante.

L'ensemencement des cellules de levûre, cultivées préalablement dans un milieu convenable, se fait sur du fort papier buvard, ou mieux, du papier à filtre, découpé en petits morceaux rectangulaires de 5 à 8 centimètres sur 1 centimètre environ de large. Ces morceaux de papier sont introduits dans un tube à essai et leur largeur est calculée de manière à dépasser un peu le diamètre du tube. Le tube à essai contient 2 à 3 centimètres cubes d'eau et, après y avoir introduit le morceau de papier, on le ferme à l'aide d'un tampon d'ouate, et l'on porte le tout à l'autoclave où on le soumet pendant dix minutes à la température de 115 degrés. La stérilisation est ainsi assurée et la présence de l'eau au fond du tube maintient constamment humide l'atmosphère intérieure. On prend alors à l'aide d'un verre effilé et plombé au préalable un peu de la levûre qu'on veut étudier, et on l'étend en une mince traînée à la surface du papier buvard où elle forme une marque jaunâtre parfaitement visible. Il suffit ensuite d'en prélever une trace, à l'aide d'un fil de platine par exemple, quand on veut soumettre la culture à l'observation.

Les spores se sont déjà formées dans ces conditions au bout de vingt-quatre heures, dans le plus grand nombre des cas, à la température de 25 degrés. J'ai pu les obtenir dans toutes les espèces de levûres que j'ai étudiées : le nombre de ces espèces a été de dix, à savoir : deux espèces de levûre de vin d'Algérie, une espèce de levûre de vin du Jura, une

(1) Voy. les travaux de M. Hansen publiés depuis 1873, dans les *Meddelser fra Carlsberg Laboratoriet*. Copenhague (1878 à 1887), en particulier : *Les Ascospores chez le genre* Saccharomyces (1883).

espèce de levûre provenant de raisins secs; quatre espèces de levûre de bière de provenance diverse (pale-ale, bières française et allemande), une petite levûre de boulangerie provenant d'Alfort, enfin une autre levûre ronde et très petite que j'avais retirée de grains de Kefir (1). Chacune de ces levûres était d'abord purifiée avec soin par des cultures successives sur gélatine, puis ensemencée dans des liquides sucrés ou non sucrés; cette distinction n'est pas sans importance. Avec les levûres de vin on avait sûrement des spores en passant du liquide sucré à la culture sur papier buvard : quelquefois même (avec une espèce d'Algérie, la levûre du Jura et la levûre de raisins secs) les spores se forment dans les liquides sucrés, quand le sucre est du lactose. On sait, en effet, que les levûres ne font pas fermenter le sucre de lait et souvent se développent mal dans les liquides qui le contiennent (2). Dans les liquides non sucrés mais légèrement acides, eau de levûre, eau de carottes, bouillon de viande, etc., elles donnent toutes des spores, sinon après la première culture, du moins après une culture un peu prolongée. Cette prolongation des cultures en milieux non sucrés, très peu acides, par conséquent très peu favorables à la vie des levûres alcooliques, m'a été indispensable avec certaines levûres de bière pour obtenir les ascospores sur papier buvard. Quand on part directement d'un liquide favorable, les cellules végétatives transportées sur papier buvard ne donnent pas d'ascospores, elles vieillissent et donnent seulement des gouttelettes d'huile. Une autre précaution est encore indispensable : les ascospores ne se forment d'une façon certaine que si l'on part d'une culture très jeune, ayant au plus trois ou quatre jours de date. Les cellules âgées donnent rarement des spores. C'est là une cause d'insuccès que l'on a certainement rencontrée très souvent.

Avec les espèces que j'ai étudiées les cellules ne contenaient jamais plus de 4 à 6 ascospores. Dans ce dernier cas, avec la levûre d'Alfort et celle du Kefir, les cellules rondes ou très peu ovales s'allongent beaucoup comme un filament mycélien et contiennent alors les spores à la suite l'une de l'autre. Il est très facile de mettre ces spores en évidence par le procédé suivant. Après avoir traité la préparation comme nous l'avons indiqué pour distinguer les ascospores des gouttelettes huileuses (dessiccation par évaporation, puis passage par la flamme et action de

(1) Le Kefir est une boisson alcoolique préparée par les habitants du Caucase avec du lait de chèvre ou de vache. On ajoute au lait des grains spéciaux, dits grains de Kefir, contenant un assez grand nombre d'organismes (Bactéries diverses), en particulier des levûres alcooliques qui varient suivant les grains. Les levûres que j'ai isolées ne produisaient pas de fermentation avec le sucre de lait. Le mécanisme de la formation du liquide alcoolique n'est d'ailleurs pas très bien expliqué.

(2) Ce n'est que tout récemment que M. Duclaux a signalé, pour la première fois, une levûre donnant une fermentation alcoolique avec le lactose (voy. les *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, nº 12).

l'alcool et de l'éther), on la trempe dans une solution de bleu de méthylène qui colore uniformément en bleu très vif toutes les cellules, on lave à l'eau distillée et l'on plonge pendant quelques secondes dans un bain d'acide nitrique au tiers ou d'acide sulfurique étendu. Cette action de l'acide minéral amène la décoloration complète des cellules végétatives : les ascospores seules restent colorées dans l'intérieur des cellules. Pour rendre leur distinction encore plus nette, on peut ensuite passer la préparation dans une solution faible d'éosine : les ascospores se détachent alors en bleu intense au milieu des cellules de levûre colorées en rose clair.

Ce procédé de coloration permet de suivre la formation endogène des spores par condensation partielle du protoplasma. On peut voir facilement dans l'intérieur des cellules le protoplasma coloré par places d'une façon diffuse aux points mêmes où les acrospores se formeront plus tard.

La résistance des spores à la décoloration par les acides fait supposer qu'elles offriront, à l'action des divers agents, une résistance plus grande que les cellules végétatives. En réalité, la différence n'est pas très sensible ; cela est vrai en particulier pour l'action de la chaleur.

Reprenons les tubes à essai dont nous avons parlé ; ils nous serviront également pour l'étude de la résistance des spores à la chaleur. Il suffit en effet de faire glisser au fond du tube, à l'aide d'un fil de platine préalablement chauffé au rouge, le papier buvard sur lequel les spores se sont formées. Les spores qui se trouvent à la surface du papier se répandent dans le liquide, et on peut alors les soumettre facilement à l'action des diverses températures que l'on veut étudier. En faisant varier le liquide du tube on peut tout aussi aisément étudier l'action de la chaleur dans les liquides nutritifs divers, neutres, alcalins ou acides. Des essais comparés se feront avec des cellules végétatives de même âge.

Dans un même liquide neutre non sucré (eau de levûre) les différentes espèces se comportent différemment. Le développement ne se faisait plus dans un milieu favorable, après chauffage pendant 5 minutes à 50 degrés et pendant 15 minutes à 47 degrés, avec la levûre de vin du Jura. Une des levûres de vin d'Algérie, au contraire, a pu résister à 64 degrés pendant 5 minutes. Les autres levûres périssaient à des températures intermédiaires.

La résistance des spores est à peine plus considérable : de 53 degrés avec la levûre du Jura, de 57 degrés au lieu de 54 degrés avec une levûre de pale-ale et de 64 degrés comme pour les cellules végétatives avec la levûre d'Algérie. Quand le milieu est alcalin, la résistance est plus faible. Elle est un peu plus grande quand le milieu est légèrement acide. On ne trouve donc pas avec les levûres les différences considérables que l'on

rencontre, par exemple, chez les spores d'un grand nombre de Bactéries à forme bacillaire.

Nous nous bornerons à ces quelques indications sur la physiologie des levûres et de leurs spores. Nous avons voulu indiquer surtout un procédé commode pour produire à coup sûr des ascospores chez les levûres. Ce procédé permet en outre d'étudier facilement, et sans risquer d'introduire des impuretés dans les cultures, les spores au point de vue physiologique. Il s'applique en particulier, avec de très légères modifications, à l'étude de l'action des antiseptiques. Mais c'est là un sujet que nous laisserons de côté pour le moment.

M. Mangin demande à M. Wasserzung si la mort des spores ou des Bactéries a été provoquée par l'action de la température dans une atmosphère sèche ou dans une atmosphère humide, car on sait que la présence ou l'absence de la vapeur d'eau influe beaucoup sur la température nécessaire pour tuer les organismes. C'est sans doute à cette circonstance qu'il faut attribuer le désaccord, signalé par M. Wasserzug, entre les résultats qu'il a obtenus et ceux indiqués par M. Hoffmann.

M. Wasserzug répond que ses expériences ont porté sur des spores exposées à l'action de la température dans une atmosphère humide. On a depuis longtemps remarqué qu'en opérant sur de grandes quantités de levûre sèche, la mort ne survient qu'à une température assez élevée, dépassant même 100 degrés. M. Wasserzug se propose de poursuivre ses recherches sur l'action de la température en opérant dans une atmosphère sèche.

M. Malinvaud, secrétaire général, donne lecture de la communication suivante :

NOTE SUR LA GAINE FOLIAIRE DES *SALICORNIEÆ* Bent. et Hook., par **M. P. A. DANGEARD**.

On sait que dans les *Salicornia* les faisceaux foliaires, en traversant plus ou moins obliquement l'écorce, émettent des branches descendantes qui se ramifient plus ou moins fréquemment et s'anastomosent en réseau à l'intérieur du parenchyme cortical à la façon des nervures dans le parenchyme des feuilles (1) ; les grandes cellules spiralées transversales

(1) Van Tieghem, *Traité de Botanique*, p. 742 et p. 827.